

## PATENT ABSTRACTS OF JAPAN

(11)Publication number : 02-051533

(43)Date of publication of application : 21.02.1990

(51)Int.Cl.

C08H 1/00  
A61K 7/00  
C12P 21/06  
// A61K 37/12

(21)Application number : 63-202582

(71)Applicant : NIPPI:KK

(22)Date of filing : 13.08.1988

(72)Inventor : SAEKI KUNIOMI  
YOKOGAWA ICHIJI  
UEHARA KOKICHI

## (54) PREPARATION OF WATER-SOLUBLE KERATIN PROTEIN

## (57)Abstract:

PURPOSE: To prepare a water-soluble keratin protein fit for the purpose of use and with a required MW in a short treating time and by a simple process by immersing keratin protein in an alkaline salt and hydrolyzing partially.

CONSTITUTION: A keratin protein of wool, feather, hair, etc., is immersed in an alkaline salt soln. to cleave disulfide bonds in keratin and to form partially thioether bonds. As the alkaline salt, calcium hydroxide is especially pref. and in this case, the concn. is from 0.1wt.% to saturation (3-4%); the pH is 11-12; the treating temp. is 40° C; and the immersing time is within 24hr. Then, hydrolysis with an acid or an alkali, decompn. with an enzyme, oxidative decompn. or reductive decompn. is performed to obtain a water-soluble keratin protein used for foods, cosmetics, industrial products, etc.

## LEGAL STATUS

[Date of request for examination]

[Date of sending the examiner's decision of rejection]

[Kind of final disposal of application other than the examiner's decision of rejection or application converted registration]

[Date of final disposal for application]

[Patent number]

[Date of registration]

[Number of appeal against examiner's decision of rejection]

[Date of requesting appeal against examiner's decision of rejection]

[Date of extinction of right]

Copyright (C); 1998,2003 Japan Patent Office

(19) 日本国特許庁 (J P)

(12) 特 許 公 報 (B 2)

(11) 特許出願公告番号

特公平7-21061

(24) (44) 公告日 平成7年(1995)3月8日

(51) Int. Cl. <sup>4</sup>	識別記号	庁内整理番号	P 1	技術表示箇所
C 0 8 H 1/00	NVD			
A 6 1 K 7/00		K 9051-4C		
C 1 2 P 21/06		9282-4B		
# A 6 1 K 38/17		8314-4C	A 6 1 K 37/12	

請求項の枚数 1 (全 5 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号 特願昭63-202582

(22) 出願日 昭和63年(1988)8月13日

(65) 公開番号 特開平2-51533

(43) 公開日 平成2年(1990)2月21日

(71) 出願人 999999999

株式会社ニッピ

東京都足立区千住緑町1丁目1番地1号

(72) 発明者 佐伯 邦巨

神奈川県横浜市旭区左近山167 左近山団

地3-24-108

(72) 発明者 横川 市次

千葉県千葉市こてはし台6-43-5

(72) 発明者 上原 孝吉

東京都府中市北山町1-4-12

(74) 代理人 弁理士 湯浅 義三 (外4名)

審査官 佐藤 邦彦

(56) 参考文献 特開 昭56-30909 (J P, A)

特開 昭61-183298 (J P, A)

特開 昭59-39612 (J P, A)

(54) 【発明の名称】 水溶性ケラチン蛋白質の製造方法

1

【特許請求の範囲】

【請求項1】ケラチン蛋白質をアルカリ性塩の溶液中に浸漬した後、酸またはアルカリによる部分加水分解、酵素分解、酸分解または還元分解をして水溶性ケラチン蛋白質を製造する方法

【発明の詳細な説明】

(産業上の利用分野)

本発明は羊毛、羽毛、毛髪、牛や豚等の体毛、角、爪および蹄等を構成している物質の主成分である硬蛋白のケラチン（本明細書では以下「ケラチン蛋白質」と呼ぶ）にアルカリ処理を施した後、酸またはアルカリによる部分加水分解、酵素分解、酸分解または還元分解を施すことによって、目的とする所望の分子量を有するケラチン蛋白質を製造する方法に関するものである。本発明によって製造されるケラチン蛋白質は、食品、化粧品およ

2

び工業的製品等に使用される。

(従来技術)

従来、多くの研究者によってケラチン蛋白質を可溶化する様々な方法が提案されている。

かかる従来法は基本的に、ケラチン蛋白質中のシスチン残基に存在するジスルフィド結合（-S-S-）を還元剤で開裂させてチオール基（-SH）とし（第一工程）、次いで液体媒体中で酵素等を用いて主鎖のペプチド結合を切断する（第二工程）二つの工程からなる。この方法の第一工程では、まず尿素水を添加することによってケラチン蛋白質を膨潤させ、次いでチオグリコール酸、メルカプトエタノール、チオグリセリンおよびチオサリチル酸等のメルカプタン類または硫化ソーダ、硫化カリウム、硫化カルシウム、硫化トリエタノールアミン、硫化ジエタノールアミンおよび硫化モノエタ

(2)

特公平7-21061

ノールアミン等の硫化物等の還元剤を用いてジスルフィド結合を開裂させる。また第二工程では、一般にpH-3の領域でペプシン等の酸性酵素、pH5-8の領域でブロメライン等の中性酵素を長時間作用させてペプチド結合を切断する。かかる二工程からなる方法が、現在水溶性ケラチンの製造方法の研究の中心となっている。

(発明が解決しようとする課題)

しかし、かかる従来法にはその構成に特有の課題がある。

従来法の第二工程におけるペプチドの切断の容易性は、第一工程の条件によって左右される。従って、第一工程の内容や条件をいかなるものにするかが現在も重要な課題となっており、当業者間で種々検討がなされている。しかし、第一工程で還元剤を効率良く働かせるためにはpHをアルカリ領域にしなければならないという制限があり、条件の検討は必ずしも容易でない。

さらに、従来法の第一工程および酵素等を使用する第二工程はともに操作が煩雑であり反応の制御が比較的困難である。また、各工程に要する時間が長かつ経費も高いという課題がある。さらに、従来法は各工程のロスが大きい点も取率も悪いという点が課題となっている。

(課題を解決するための手段)

本発明は、かかる従来法の課題を解決し、食品、化粧品、工業用製品等の使用目的に応じた所望の分子量の水溶性ケラチン蛋白質を、処理時間が短くて簡便な工程で取率良く得る方法を提供するものである。

本発明の適用対象とするケラチンは、羊毛、羽毛、毛髪、牛や豚等の体毛、角、爪および蹄等を構成するケラチン蛋白質のいずれであっても良い。

本発明は、本質的にアルカリ処理および部分分解の二工程を含む方法である。そして本発明の主たる特徴は、ケラチン蛋白質にアルカリ処理を施すことによって、従来法と根本的に異なる機構を経て水溶性ケラチン蛋白質を製造する点にある。

本発明のアルカリ処理は、アルカリ性塩の溶液にケラチン蛋白質を浸漬することによって行う。本発明のアルカリ性塩は溶液にしたときにアルカリ性を示す塩を広く含むが、その中でも水酸化カルシウム、水酸化ナトリウムまたは水酸化カリウムを用いるのが好ましい。また、特に好ましく一般的なのは水酸化カルシウムである。

かかるアルカリ性塩の溶液にケラチン蛋白質を浸漬することによって、ケラチン分子中のジスルフィド結合(-S-S-)は部分的にチオエーテル結合(-S-)に変わる。ジスルフィド結合を開裂してチオール基(-SH)にする従来法と異なり、本発明はチオエーテル結合をケラチン蛋白質中に部分的に形成させる点に新規な特徴がある。具体的には、ケラチン蛋白質中のジスルフィド結合を有するシスチン残基をチオエーテル結合を有するランチオニン残基に変えることを特徴とする。チオエーテル結合は、非常に強固であるためアルカリ処理後のペプ

チド分解工程において切断されることはなく最後までケラチン蛋白質中に残存する。従って、アルカリ処理の段階でランチオニン残基生成を制御することによって、最終生成物たる水溶性ケラチン蛋白質の分子量を調節することが可能になる(試験例2)。

ランチオニン残基生成の制御は、アルカリ性塩溶液の濃度、アルカリ処理の時間および温度等の条件のいずれか一つを変化させることによって行っても良いし、またこれらの条件を組合わせて行ってもよい。具体的には、アルカリ性塩として水酸化カルシウムを使用する場合には濃度0.1重量%から飽和溶液(3-4重量%)のものまで用いることができ、pHは11-13の範囲で、処理温度は40℃以下、浸漬時間は24時間以内で変えることができる。また、水酸化ナトリウムまたは水酸化カリウムを使用する場合には濃度0.001-0.1Nのものまで用いることができ、pHは11-13の範囲で、処理温度は40℃以下、浸漬時間は24時間以内で変えることができる。アルカリ処理中、アルカリ性塩の溶液は攪拌してもよい。また、アルカリ処理の前後にケラチン蛋白質を適宜通常の方法により水洗する。

処理対象とするケラチン蛋白質について、予めアルカリ処理条件とランチオニン残基生成量との関係を明らかにしておけば、所望の分子量の水溶性ケラチン蛋白質を効率良く得ることができる。

例えば試験例1で用いたケラチンについては、アルカリ処理の時間が長ければシスチン残基からランチオニン残基への変換率が高まり、その具体的な関係は第1表に示す通りになっている。かかる関係を処理温度等の他の条件についても明らかにしておけば、所望の分子量を有する水溶性ケラチンを得るための条件を適確に選択することが可能となる。さらに、アルカリ処理後のペプチド分解の条件とも組合わせることによって分子量を調節をより適確に行うことが可能となる。このように従来法に比べて本発明には変化させることができる条件が多いため、本発明はより高い精度で分子量を調節できる点にも特徴がある。

本試験例によるアルカリ処理は、シスチン残基とランチオニン残基以外のアミノ酸残基になんら実質的な変化を与えないことも試験例1から明らかになっている。従って、本発明のアルカリ処理はシスチン残基に選択的に作用するものであり、好ましくない副反応を伴うものではない。また、本発明のアルカリ処理はアルカリ性塩の溶液にケラチン蛋白質を浸漬するという非常に簡便なもので処理時間も短い点で実用性が極めて高い。

ケラチン蛋白質はアルカリ処理した後、ペプチド結合の部分分解に処される。かかる部分分解は酸加水分解、アルカリ加水分解、酵素分解、酸分解または還元分解等の通常用いられる方法をそのまま使用することができる。上述の従来法では、アミノ酸レベルにまで分解が進行してしまうため酸またはアルカリ部分分解を行うこと

(3)

特公平7-21061

5.

6

ができないのに比べて、本発明ではペプチド分解法の選択の幅が大きくなっている。本発明によって酸加水分解を行う場合には例えば10-30重量%の塩酸4-8kgに対して1-2kgの割合でセラチン蛋白質を加え80-100℃で1-10時間分解を行う。部分分解を行った後は、アニオン交換樹脂で樹脂化する。また、アルカリ加水分解を行う場合には例えば0.1-10%の水酸化ナトリウム水溶液4-8kgに対して1-2kgの割合でセラチン蛋白質を加え70-100℃で1-5時間分解を行う。部分分解を行った後は、カチオン交換樹脂で樹脂化する。

本発明の水溶性セラチン蛋白質の製造方法は、上述のアルカリ処理およびペプチドの部分分解以外の工程を含んでも良い。例えば、ペプチドの部分分解後に脱塩、伊通、脱臭および脱色等の精製を行ってもよい。また、部分分解、精製後に濃縮し乾燥してもよい。さらに、溶液状にしておいて防腐剤等を添加してもよい。

本発明をさらに以下の実施例、試験例によって具体的に説明するが、本発明の範囲はこれらの実施例、試験例に限定されるものではない。

#### 実施例1

セラチン蛋白質1kgを水洗後、1重量%の水酸化カルシウム水溶液に6時間浸漬した。その後、セラチン蛋白質を水洗し、30重量%塩酸酸性溶液4ℓを加えて100℃で2時間煮沸した。この溶液を活性炭で脱色、脱臭処理して淡黄褐色のオリゴセラチンを得た。得られたオリゴセラチンの分子量はゲル透過法による測定の結果約1000で\*

\*あることが判明した。

#### 実施例2

セラチン蛋白質1kgを水洗後、1重量%水酸化カルシウム水溶液に2時間浸漬した。その後、セラチン蛋白質を水洗し、10重量%塩酸酸性溶液4ℓを加えて100℃で4時間煮沸した。この溶液を活性炭で脱色、脱臭処理して淡黄褐色のオリゴセラチンを得た。得られたオリゴセラチンの分子量はゲル透過法による測定の結果約400であることが判明した。

#### 10 実施例3

セラチン蛋白質1kgを水洗後、0.5重量%水酸化カルシウム水溶液に24時間浸漬した。その後、セラチン蛋白質を水洗し、50%過干渉5ℓを加えて35℃で24時間酸化分解した。この溶液を活性炭で脱色、脱臭処理して淡黄褐色のオリゴセラチンを得た。得られたオリゴセラチンの分子量はゲル透過法による測定の結果約1000であることが判明した。

#### 試験例1

20 セラチン蛋白質を水洗後、最終濃度が0.5重量%になるような水酸化カルシウム溶液に室温で浸漬した。浸漬を行っていないセラチン蛋白質および浸漬を開始してから1、2、6および24時間後に取出したセラチン蛋白質を水洗後、セラチン蛋白質中のシスチン残基、ランチオニン残基等のアミノ酸残基の組成を調べた。その結果は、第1表に示す通りである。

第 1 表

アミノ酸	アルカリ処理時間によるアミノ酸組成				
	未処理	1時間	2時間	6時間	24時間
システイン酸	5.8	5.0	4.8	7.7	6.7
アスパラギン酸	61.5	62.3	61.1	62.8	61.3
トレオニン	72.2	71.3	69.8	72.6	70.5
セリン	111.6	110.4	108.9	108.8	106.1
グルタミン酸	125.8	129.5	127.8	128.0	125.1
プロリン	75.7	75.6	73.9	75.5	75.8
ランチオニン	2.3	24.3	38.9	34.5	63.1
グリシン	78.0	78.8	78.4	78.6	77.2
アラニン	53.2	53.1	52.8	53.1	53.3
シスチン	70.9	58.3	52.8	48.8	34.1
バリン	67.1	67.7	68.3	67.1	67.6
メチオニン	4.5	4.2	4.5	4.6	4.8
イソロイシン	33.3	31.9	33.3	32.7	33.0
ロイシン	73.0	71.1	71.6	72.1	71.7
チロシン	29.9	19.0	19.6	18.2	22.1
フェニルアラニン	24.7	22.2	25.1	22.1	22.1
リジン	33.0	37.6	38.9	31.0	27.7
ヒステジン	14.9	14.2	14.7	9.5	14.5
アルギニン	73.0	73.0	72.3	78.6	74.5

(4)

特公平7-21061

7

8

## 試験例2

ケラチン蛋白質を水洗後、2.0重量%水酸化カルシウム水溶液に28℃で1、6および24時間浸漬した。その後、水洗し中和したケラチン蛋白質1kgを、2.9重量%水酸化ナトリウム水溶液8ℓに入れ80℃で3時間加水分解した。加水分解後のケラチン蛋白質をろ過、脱塩した後波長280nmの紫外線で検出しながらセファデックス (Sephadex) G-75カラムを通して分子量の変化を測定した。

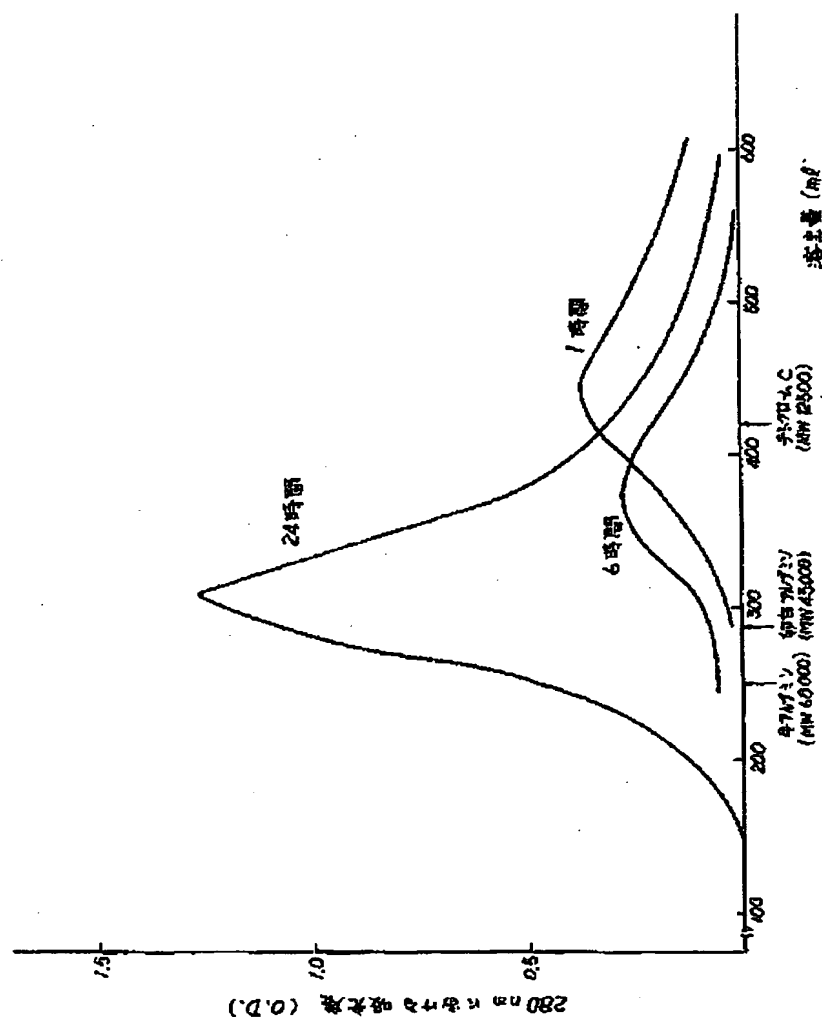
第1図は浸漬時間1、6および24時間の試料それぞれのクロマトグラムである。それぞれの試料のピークと卵白 10 アルブミン、牛アルブミンおよびチトクロームC等の標\*

\*標準物質の検査曲線との比較から、浸漬時間1、6および24時間の試料のピークの分子量はそれぞれ9,700、19,000および36,000であると推定される。本実施例によって、アルカリ性塩への浸漬時間を長くしてランチオン残基を多くしておくこと最終生成物の分子量が大きくなることが示された。

## 【図面の簡単な説明】

第1図は、試験例2の条件により水酸化カルシウム溶液に浸漬した後アルカリ加水分解したケラチン蛋白質のセファデックスG-75によるクロマトグラムである。

【第1図】



(5)

特公平7-21061

フロントページの続き

(51)Int.Cl.<sup>°</sup>

C 0 7 K 1/12

識別記号

庁内整理番号

8318-4H

F I

技術表示箇所